

## Informal Comments

1. 補正について

国際出願日における請求の範囲第1～11項を変更し、第16項を削除する補正をした。補正後の請求項1～7は薬剤又は移植材、請求項8～15は損傷組織の再生治療方法に関する。補正後の請求項について、以下に詳しく説明する。

請求項1

請求項1中の間葉系幹細胞について、「投与された間葉系幹細胞」という文言により、本発明の薬剤又は移植材が、間葉系幹細胞と一緒に用いる薬剤又は移植材というよりは、あくまで間葉系幹細胞を例えば血中、腹腔内等に注入することを前提として使用される薬剤又は移植材に係るものであって、間葉系幹細胞を損傷組織へ遊走・集積するために用いるものであることを明確にした。

ここで、請求項1（及び請求項8）中の「投与された間葉系幹細胞」とは、「内在性の間葉系幹細胞とは別として投与された間葉系幹細胞」を意味する。

上記補正の根拠は、例えば本願明細書中、実施例4を参照されたい。実施例4中では、PDGF-BBをふくらはぎ部に皮下注射し、間葉系幹細胞（GFP-MS C）を尾静脈部へ注入している（本願明細書段落0058）。このことは、発明者らが本願出願時より、間葉系幹細胞とは別個に、間葉系幹細胞の存在を前提として本発明の薬剤等を投与することを想定していたことを裏付ける。

さらに実施例4の結果として、発明者らは、尾静脈から注入したGFP-MS Cがふくらはぎ部まで遊走したこと（本願明細書段落0060、5行目）、およびGFP-MS CがPDGF-BBが局在する部位に、より多く遊走・集積したこと（本願明細書段落0060、12～13行目）を確認している。このことは、本発明の薬剤又は移植材が、注入した間葉系幹細胞を目的部位へ誘導するための薬剤（すなわち間葉系幹細胞の遠隔操作剤）として用い得ることを、本発明者らが出願時から認識していたことを裏付ける。

また、請求項1の文末を、「・・・抑制するための薬剤又は移植材。」と補正することにより、請求項1中において用途として記載した部分を明確にした。

請求項2

補正前の請求項7及び8に記載の投与時期を請求項1に構成要件として追加し、「間葉系幹細胞の投与と同時に、連続的にまたは別個に使用するための」薬剤または移植材に係る請求の範囲とした。

請求項3～7

補正前の請求項2～6に対応する。なお、補正前の請求項7および8は請求項

2に組み込まれたため削除した。

#### 請求項 8

治療方法に関して、例えば補正前の請求項 10 に記載されていたように、間葉系幹細胞の遊走・集積能等は所定の因子の投与により行う構成をとることを明確にした。

また、請求項 1 と同様、「投与された間葉系幹細胞」という文言により、間葉系幹細胞の存在を前提として因子を投与することにより、注入した間葉系幹細胞を目的部位へ誘導する構成をとる再生治療方法であることを明確にした。

#### 請求項 9

請求項 2 と同様、補正前の請求項 16 に記載の因子の投与時期に関する構成要件を請求項 8 に追加し、「間葉系幹細胞の投与と同時に、連続的にまたは別個に」因子が投与される、損傷組織の再生治療方法に係る請求の範囲とした。

#### 請求項 10～15

補正前の請求項 10～15 に対応する。

#### 請求項 16

請求項 9 に組み込まれたため削除した。

### 2. 「国際調査機関の見解書、第 V 欄、2. 文献および説明」について

#### 説明[1]の内容

請求の範囲 1-6、8 は、国際調査報告に引用された文献 1 (JP2000-501966A & W097/22308A & US6132214A1 & EP893975A) に記載されているから新規性及び進歩性を有しない。

特に、文献 1 には、生物活性物質として骨誘導性の性質を持つ作用物質を含有する医療用インプラントが記載されており、該生物活性物質として、隣接細胞を間葉細胞等にし、骨形成を刺激する作用を有する EGF、FGF、PDGF、IGF 等が記載され、該インプラントを歯槽骨や顎骨欠損に対して用いることも記載されている。該生物活性物質が間葉系幹細胞遊走能促進因子であること、該インプラントが損傷組織への間葉系幹細胞の遊走・集積を促進するおよび／または損傷組織からの間葉系幹細胞の拡散を抑制することは記載されていないが、EGF、FGF、PDGF、IGF 等を含有する、歯槽骨や顎骨欠損に対して用いる移植材としては、本願のものと区別できない。

#### 説明[1]に対する出願人のコメント

文献 1 は移植局所における骨形成能を向上させることを目的として上記生物活性

物質を含むインプラントを用いることを主体としており、上記生理活性物質のこれまで報告されている機能（骨形成能、骨吸収抑制等）となんら変わらない、局所での DDS 概念を応用したものである。

これに対し、補正後の本願の請求項 1 に係る発明（以下本願発明 1 という）は上記生理活性物質等の細胞遊走能を詳細に検討し（本願明細書、実施例 1 及び 2 参照）、さらに移植した外からの間葉系幹細胞を該生理活性物質によって集積させることを動物実験で確認し（本願明細書、実施例 4）、請求の範囲を補正することにより更に明確にしたように、該生理活性物質を移植間葉系幹細胞の遠隔操作剤として用いることが出来ることを初めて発見したものである。更にその用途はインプラントに限らず、新たに細胞制御剤として用いることも出来る。すなわち、引用文献 1 中に記載の発明とはその用途が全く異なる。

従って、本願発明 1 は新規性を有する。また、引用文献 1 中には本願発明 1 の構成に至る示唆は全くないから、本願発明 1 は進歩性もまた有する。請求項 2 ～ 6 及び 8 に係る発明もまた同様である。

#### 説明[2]の内容

請求の範囲 1 - 4、6、8 は、国際調査報告に引用された文献 2（JP2003-325657A & W003/94987A）および文献 3（JP2003-111831A）に記載されているから新規性及び進歩性を有しない。

特に、文献 2 には IGF、PDGF、FGF 等が担持された関節軟骨形成用部材が記載されており、文献 3 には、骨髄細胞を包埋してゲル化したものと一体化している骨軟骨欠損部に補填するための骨軟骨移植材が記載されており、該移植材に FGF、IGF、PDGF を複合することができることも記載されている。

#### 説明[2]に対する出願人のコメント

文献 2 は、関節軟骨再生において上記生理活性物質を担持させることにより再生を促進させる発明に関し、文献 3 は  $\beta$  TCP とコラーゲンや上記生理活性物質を用いて骨軟骨欠損を修復する発明に関する。従って、文献 1 について上述したのと同様に、移植間葉系幹細胞の遠隔操作剤として上記生理活性物質等を用いることが出来ることを初めて発見した本願発明 1 とは根本的に発想が異なり、文献 2 及び 3 の記載から本願の構成に到ることは容易ではない。よって、本願発明 1 は新規性および進歩性を有する。請求項 2 ～ 4、6 及び 8 に係る発明もまた同様である。

#### 説明[3]の内容

請求の範囲 1 - 3、6 は、国際調査報告に引用された文献 4 (ANTONELLA Puglianiello, Expression and role of PDGF-BB and PDGFR- $\beta$  during testis morphogenesis in the mouse embryo, Journal of cell Science, 2003, Vol.117, No.7, p.1151-1160) および文献 5 (YING Zhuo, A novel murine PDGF-D splicing variant results in significant differences in peptide expression and function, Biochemical and Biophysical Research Communications, 2003, Vol.308, p.126-132) に記載されているから新規性及び進歩性を有しない。

特に、文献 4、5 には PDGF が間葉系幹細胞の遊走・増殖に関与する化学遊走物質であること、PDGF の発現、活性が創傷治癒に重要であることが記載されている。

#### 説明[3]に対する出願人のコメント

本願発明 1 は文献 4、5 と異なり、PDGF 等を単一で創傷治癒に用いるものではない。補正後の請求の範囲においてより明確にしたように、本願発明 1 はあくまで例えば血中、腹腔内等へ間葉系幹細胞を注入することを前提として、注入した間葉系幹細胞を目的部位へ誘導するための薬剤として PDGF 等を用いるものである。この組み合わせは損傷組織に対し、相加的あるいは相乗的に効果があり、そのような発明の構成は引用文献 4 および 5 中になんら示唆されていない。さらに、文献 4 及び 5 中には、PDGF 以外の化学物質について、間葉系幹細胞との関係は記載されていない。従って、本願発明 1 は新規性及び進歩性を有する。請求項 2、3 及び 6 に係る発明もまた同様である。

#### 説明[4]の内容

請求の範囲 1 - 8 は、国際調査報告に引用された上記文献 1 - 5、文献 6 (大串始, 間葉系幹細胞を利用した骨関節疾患治療, 実験医学, 2003, Vol.21, No.8, p.161-165)、文献 7 (新郷哲朗, 脳神経疾患に対する細胞移植療法, 実験医学, 2003, Vol.21, No.8, p.140-147) および文献 8 (井庭理, 虚血性心臓病・虚血下肢への血管再生を目的とした細胞治療, 実験医学, 2003, Vol.21, No.8, p.154-160) により進歩性を有しない。

文献 4、5 には PDGF を移植材とすること、PDGF を含有する薬剤または移植材を、変形性関節症、骨折、歯槽骨もしくは顎骨欠損、脑梗塞、心筋梗塞または下肢虚血による損傷組織等の再生医療に用いること、該薬剤または移植材を間葉系幹細胞と同時に、連続的に、または別個に投与することについては記載がない。

しかしながら、PDGF を移植材に含有させること、PDGF を間葉系幹細胞が含

まれる骨髄細胞と共に用いることは、文献1－3に記載の事項であるし、文献6－8には間葉系幹細胞が骨芽細胞や軟骨細胞、神経細胞、心筋細胞に分化する能力を持ち、間葉系幹細胞を再生医療に用いる移植材等にし、変形性関節症等の骨疾患や心筋梗塞、下肢虚血等の疾患に用いることができることが記載されている。

してみると、文献4、5に記載のPDGFを移植材とすること、また、PDGFを含有する薬剤または移植材を、変形性関節症、骨折、歯槽骨もしくは顎骨欠損、脳梗塞、心筋梗塞または下肢虚血による損傷組織等の再生医療に用いること、間葉系幹細胞と共に用いることは文献1－8の記載に基づいて当業者が容易に想到し得ることである。

#### 説明[4]に対する出願人のコメント

引用文献1－8のいずれにおいても、PDGFを移植材に含有させることは近傍での間葉系幹細胞をはじめとした修復細胞の活性化を念頭に置いたものがある。これに対し、本願発明1は、補正後の特許請求の範囲においてより明確にしたように、あらかじめ移植した間葉系幹細胞の遠隔操作剤として該薬剤または移植材を用いている。本願発明1によれば、例えば大きく欠損した組織や損傷の大きな部位等、幹細胞が足りない状況において、本発明の薬剤または移植材を適用し、注射によって間葉系幹細胞を集積することができる。従って、その作用および機能が引用文献1～8中の記載とは全く異なり、その効果は技術水準から予測される範囲を超えた顕著なものである。よって、本願発明1は進歩性を有する。請求項2～8に係る発明もまた同様である。